

Aus der Augenklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. E. Schreck

Über den Einfluß von Naphthochinon
auf den Glucoseverbrauch
von überlebendem Linsenepithel
und von Irisgewebe

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Erich Jakob
aus Memmingen

1976 # 194

Aus der Augenklinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. E. Schreck

Über den Einfluß von Naphthochinon
auf den Glucoseverbrauch
von überlebendem Linsenepithel
und von Irisgewebe



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Erich Jakob
aus Memmingen

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Priv.-Doz. Dr. U. Mayer

Korreferent: Prof. Dr. E. Schreck

Tag der mündlichen Prüfung: 5.4.1976

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung	1
a. Anatomie und Physiologie der Linse	1
b. Kultivierung von Linsenepithel und Iris und Einflüsse gewisser Sub- stanzen	6
B. Material und Methoden	8
a. Vorbereitung des zu untersuchenden Gewebes	8
b. Material und Reagenzien	10
C. Frühere Ergebnisse bezüglich der Wirkung des Naphthochinons	11
a. Über den Einfluß von Naphthochinon auf verschiedene Stoffwechselvor- gänge	11
b. Physiologische und biochemische Veränderungen durch Naphthochinon	13
c. Elektronenmikroskopische Unter- suchungen	15
D. Eigene Ergebnisse	17
a. Werte und Tabellen	17
b. Statistische Auswertung	18
c. Vergleich der gemessenen Werte und Ergebnisse mit Untersuchungen über die Atmung an Linsen	21

Inhaltsverzeichnis

E. Zusammenfassung	22
F. Literaturnachweise	24

A. Einleitung

Ein Organ wie die Linse des Auges, nur von Zonulafasern in einer Flüssigkeit gehalten und durch Perfusion ernährt, ein derartiges lebendes und schmerzfreies, körpereigenes Gebilde, in dem während des ganzen Lebens keine einzige Epithelzelle verlorenggeht, bietet eine Vielzahl von experimentellen Möglichkeiten. Die Zellen unterliegen zwar einem Wandel, behalten aber bis zum Ende ihres Lebens eine optische Funktion, und so kann die Linse trotz Dickenzunahme von Kapsel und Kern bis ins hohe Alter hinein klar bleiben wie PAPACONSTANTINOUS beschreibt. Seit im 17. Jahrhundert QUARRÉ, LASEUR, ROLFINCK, BRISSEAU u.a. die Linse als selbstständiges Organ erkannt hatten, dessen Trübung als grauer Star in Erscheinung trete, waren die Grundlagen zur Erforschung dieser Krankheit gegeben. Die Frage nach den Ursachen der Linsentrübung schließt die Frage nach der Ursache der Durchsichtigkeit der Linse ein.

a. Anatomie und Physiologie der Linse

Physiologisch gesehen ist die Voraussetzung für die Durchsichtigkeit der Linse nach Untersuchungen

von TROKEL eine ausgeprägte räumliche Ordnung der Proteinmoleküle in der Linsenfaser. Die Anatomie zeigt, daß die Linsenrinde aus sogenannten Linsenfasern besteht, welche langgestreckte, umgewandelte Zellen darstellen. Lebenslanges Wachstum der Linse läßt aus den Äquatornahen Epithelzellen immer wieder Linsenfasern entstehen, die sich als oberste Schicht zwischen Epithel und Linsenrinde bzw. hinten zwischen Kapsel und Linsenrinde schieben. Das Linsenepithel befindet sich vor der vorderen Linsenrinde und hinter der vorderen Linsenkapsel. Es besteht aus normalen poly- oder hexagonalen Zellen, die einen runden oder ovalen Kern besitzen. Dazwischen finden sich regelmäßig pyknotische Kerne (BRINI). Nur vereinzelt treten sternförmige Zellen auf. In der umfassenden Beschreibung des Linsenepithels durch ROHEN kommt die Meinung zum Ausdruck, daß es keine eindeutige Typengliederung innerhalb der Zellen des Linsenepithels gebe. In Übereinstimmung damit sahen OBERMANN und HANSSON mit Hilfe der dreidimensionalen Elektronenmikroskopie unter der Capsula lentis die einzelnen, etwa 10μ großen Zellen wie Pflastersteine nebeneinander liegen.

TROKEL nahm aufgrund von Messungen der Lichtzerstreuung eine "parakristalline" Anordnung der Eiweißmoleküle an. Zu ähnlichen Überlegungen kommt THIELE. Er sieht die Linseneiweiße als "ionotropes Gel" an, die Moleküle werden also in einem bestimmten Ionenmilieu in eine regelmäßige räumliche Ordnung gebracht. Das Modell von THIELE für die räumliche Anordnung spezifischer Eiweißmoleküle führt zu der Forderung, daß zur Klarerhaltung der Linse Energie benötigt wird. Einmal wird sie zur Synthese und Erhaltung der Eiweiße erforderlich, dann zur Erhaltung des Ionenmilieus. Letztere stellt ein sehr wesentliches Problem der Linsenphysiologie, nämlich das der Ionenverteilung und damit das der Kapselpermeabilität dar. Die normale Linse enthält wenig Na^+ und viel K^+ im Gegensatz zum umgekehrten Kationenverhältnis im Kammerwasser. Ihr Ionenmilieu entspricht somit dem eines Interzellularraumes. Die Aufrechterhaltung dieses Kationenverhältnisses ist nur möglich, wenn der passiven Ionendiffusion ein aktives Transportsystem gegenübersteht. PAU wies in seinen Arbeiten zur Linsenpathologie auf die hervorragende Bedeutung des Transportsystems für die Klarerhaltung der Linse hin.

HARRIS, BECKER und KINSEY haben inzwischen im Tierversuch genauere Daten über das Kationentransportsystem erarbeitet. Die Eigenschaften dieses Systems, insbesondere seine Hemmbarkeit durch Quabain stimmen mit den Angaben von BONTING über die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -aktivierte ATP-ase in der Linse überein, so daß heute angenommen wird, daß der aktive Kationentransport über dieses Enzym erfolgt. Die Tatsache, daß der Transport von Kationen energieabhängig ist, zeigt die Bedeutung des Energiestoffwechsels für das Klarbleiben der Linse (FRIEDBURG). Auch FORGACS weist auf die Bedeutung des Adeno-Triphosphatase-Enzyms hin. Die ATP-ase gibt den verschiedenen Zellen des Organismus die Möglichkeit für die synthetische und funktionelle Energiegewinnung. Es spielt eine sehr wichtige Rolle in der Erhaltung der Durchsichtigkeit der Linse, ebenso in der Funktion der Photoreceptoren und in der Sekretion des Kammerwassers des Auges. Die histochemische Untersuchung erlaubt, dieses Enzym nachzuweisen, dessen Lokalisation allen diesen Funktionen entspricht. Der Energiestoffwechsel der Linse setzt sich zusammen aus der Glykolyse, dem Citrat-Cyclus, dem Pentose-Phosphat-

Cyclus und den sogenannten Sorbit-Weg. Wichtig für uns in Bezug auf das Naphthochinon ist die Glykolyse. Soweit wir heute wissen, ist die Glucose die Hauptenergiequelle der Linse. Verschiedene Autoren führten Messungen der Glykolyse in Inkubationsversuchen durch, wobei sich erhebliche Unterschiede zwischen den Linsen verschiedener Spezies zeigten. KINOSHITA fand, daß die für die Erhaltung der Transparenz und die Syntheseleistungen der Linse erforderliche Energie im wesentlichen durch Abbau von Glucose zu Milchsäure geliefert wird. Dem entsprechend finden sich die Enzyme der aeroben Glucoseoxydation nur in geringer Konzentration. Die Energieproduktion der anaeroben Glykolyse ist besonders im Epithelbereich lokalisiert und hier für den aktiven Transportmechanismus der Linse von Bedeutung. Die hohe Potenz der Linse gerade zur anaeroben Glykolyse ist am Enzymaktivitätsmesser ablesbar. Wichtig dürfte in diesem Zusammenhang folglich die Aktivität der Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase und der Lactatdehydrogenase für die Energiegewinnung sein. Erstere katalysiert die Umsetzung des Glycerinaldehyd-3-Phosphats zu 1-3-Diphosphoglycerinsäure, letztere die Reduktion des Pyruvats zu Lactat.

Eine Besonderheit des Linsenstoffwechsels stellt die Sorbitsynthese dar, zu der die Linse durch eine niedrige Hexokinaseaktivität, relativ hohe Aldose-reductase-Werte und einen intensiven Pentose-Shunt besonders befähigt ist.

b. Kultivierung von Linsenepithel und Iris und Einflüsse gewisser Substanzen

Wie vielen anderen so erscheinen WEISSENFELS in vitro teilungsfähige Zellen - hier diejenigen des Linsenepithels - als ein nahezu ideales Modell für Grundlagenversuche. Schließlich machen sie durch den Wegfall der Korrelationskräfte des Herkunftsorganismus rasch eine Rückdifferenzierung durch. Dadurch wird es möglich, sie im ursprünglichen Zustand zu studieren. Nachdem KIRBY 1927 - soweit übersehbar - als erster die Möglichkeit zur Züchtung von Linsenepithelien mitgeteilt hatte, befaßt sich BAKKER 1936 mit der Umformung derselben während einer Kultur in vitro. Es lag nahe, neben dem Linsenepithel auch die Regenbogenhaut zu inkubieren. Allerdings besteht dieselbe nicht aus einem homolog aufgebauten Gewebe: Sie stammt, wie bekannt ist, aus dem Mesenchym und stellt morphologisch eine Vielzahl von endothelialen

und fibroblastischen Elementen dar (MAYER).
Außer dem für das eigene Überleben notwendigen Stoffwechsel üben Zellen meistens noch ganz spezifische Funktionen im Verband der Gewebe aus. Hierfür sind sie ganz unterschiedlich mit Enzymen ausgestattet und bieten einem Gift je nach biochemischen Aufbau individuelle Angriffsflächen. So bemerkte z. B. WATANABE, daß Dinitrophenol auf Epithelzellen ganz anders wirkt als auf Pigmentzellen. Auch können radioaktive Strahlen durch ihre allgemein zellschädigende Wirkung eine Trübung der Linse hervorrufen. Ebenso können Stoffwechselstörungen Linsentrübungen nach sich ziehen. So berichteten POHJOLA und RAIPIO über cataracta zonularis bei idiopathischer infantiler Hypoglykämie. Hierbei wurde deutlich , wie empfindlich die Linse auf Alterationen des Kohlenhydratstoffwechsels reagiert. Von VINAS (1965) stammt eine Zusammenstellung von kataraktogenen Giften und Medikamenten: Dinitrophenol, Ergotin, Thallium, Pantocain, Nadisan, Naphtalin, Atosil, Chlorpromazin und Corticosteroide. Von Cholinesterasehemmern (Mintacol, DFP und dergleichen) werden nach SCHRECK, CARENINI und ORZALESI typische Linsentrübungen hervorgerufen. Für Pilocarpin trifft dies nicht zu. Da es aber durch

Hemmung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase ebenfalls eine Störung des Zuckerabbaus bewirkt, kann es in Kombination mit anderen ebenfalls den Zuckerabbau störende Substanzen, wie z. B. Naphthochinon, die Linse schädigen.

B. Material und Methoden

a. Vorbereitung des zu untersuchenden Gewebes

Die eigenen Untersuchungen erfolgten an Geweben frisch geschlachteter Kälber. Die Bulbi wurden in Kühlbehältern bei 0 Grad bis + 6 Grad ins Labor gebracht und innerhalb der folgenden 3 bis maximal 4 Stunden unter sterilen Bedingungen präpariert. Wie später aus elektronenmikroskopischen Bildern ersichtlich wurde, erleiden die Zellen dabei grossenteils reversible Veränderungen. Der zu verarbeitende Bulbus wurde nach Abspülung mit aqua bidest. unter sterilen Bedingungen auf eine Zellstoffunterlage in eine Petrischale gelegt. Nach dem Auftropfen einer Penicillin-Streptomycin-Lösung erfolgte eine ~~nachmalige~~ Reinigung mit physiologischer Kochsalzlösung.

Dann wurde die Vorderkammer am Limbus mit einer Rasierklinge eröffnet und die Hornhaut mit Schere und Pinzette in toto abgetragen. Nun war es unter sterilen Kautelen möglich, mit einer Faßpinzette die Iris abzuziehen und in einer anderen Petrischale in 2 bis 4 mg schwere Stückchen zu zerteilen. Die Präparation des Linsenepithels begann mit einem Scherenschnitt durch die Kapsel entlang des Äquators. Danach ließ sich dieselbe fassen, mitsamt anhängendem Epithel abziehen und in vorbereitete Gefäße bringen. Dabei war es auch möglich, die zentralen oder peripheren Anteile zu studieren.

In den Gefäßen befand sich das Medium, TCM 199 mit 20% Kälberserum, das sich für diese Experimente besonders gut eignet. Von MERRIAM und KINSEY (1950) stammt eine Zusammenstellung bewährter Inkubationsmedien. In ihr wird auch die soeben genannte Lösung empfohlen, welche unter anderem auch WACHTEL und KINSEY, HARDING und NEWMANN verwendeten. Die gewählte Temperatur im Brutschrank lag bei 36,5 bis 37 Grad Celsius, damit nach VOADEN im oberen Optimalbereich. Nach 5 Tagen ließ sich durch photometrische Bestimmung (Merckotest, GOD-Methode) mit dem Eppendorf-Gerät der Glucosegehalt sowohl im mitlaufenden Kontrollgefäß als auch in den Gefäßen mit den inkubierten

Epithelien bzw. Irisstückchen messen. Daneben wurden auch Epithelien und Irisstückchen in dem selben Medium TCM 199, dem β -Naphthochinon in der Verdünnung 10^{-4} zugesetzt war, inkubiert und ebenfalls nach 5 Tagen auf deren Glucoseverbrauch untersucht.

b. Materialien und Reagenzien

1. Medium TCM 199

bestehend aus:

80 ml TCM

20 ml Kälberserum

1 ml Antibioticalösung

1 ml NaCo_3 (0,5%)

1 ml Naphthochinonstammlösung $\pm$

steril filtriert.

2. Reagenzien zur Bestimmung des Glucosegehaltes
im Medium:

(nach Merckotest, GOD-Methode)

Uranylacetat

Natriumchlorid

Puffer-Enzym-Gemisch

Dianisidin

Glucose-Standard-Lösung

3. Prinzip der GOD-Methode

Glucoseoxydase (GOD) katalysiert die

Oxydation von Glucose nach folgender

Gleichung:



Bei dieser Reaktion entsteht Wasserstoffperoxyd,

das in Gegenwart von Jodid- und Vanadationen

o-Dianisidin zu einem rotbraunen Farbstoff

oxydiert. Die Menge dieses Farbstoffs ist dem

Glucosegehalt proportional.

4. Berechnung des Glucosegehaltes

$$\text{Glucosegehalt} = \frac{E_A \cdot 100}{E_S} \text{ mg /100 ml}$$

wobei: E_A = Extinktion der Analyse

E_S = Extinktion der Standardprobe

C. Frühere Ergebnisse bezüglich der Wirkung des

Naphthochinon

a. Über den Einfluß von Naphthochinon auf verschiedene Stoffwechselvorgänge

Schon 1902 beschrieb LEZENIUS " Einen Fall von Naphthalin-Katarakt am Menschen". Ihr begegnet man vor allem bei Arbeitern in Naphthalinbetrieben.

Bei Messungen des Glucoseverbrauchs an Linsen von Hasen durch WEEKERS (1941) ergab sich, daß für Linsen mit Trübungen durch Naphthalin die Glucoseverbrauchswerte weniger als die Hälfte von normalen betragen. Aus diesen sowie aus ähnlichen Erfahrungen von FERRARA ist zu schließen, daß sich bei der Entwicklung der Naphthalin-Katarakt der Kohlenhydratabbau mehr und mehr verringert. Neben der Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase fand sich auch die Lactatdehydrogenase bei einem großen Teil der Linsen in ihrer Wirkung beeinträchtigt, ein Befund, der sich in vitro reproduzieren ließ (FRIEDBURG und MAYER). Nach Befunden von NORDMANN und ZIMMER stieg jedoch auf die Gabe von Naphthochinon der Glucoseverbrauch zunächst erst einmal an, um beim Auftreten der ersten Trübungen etwa normale Werte anzunehmen und danach erst deutlich abzufallen. Bei gleichzeitiger Messung der freigesetzten Kohlen- säure und Milchsäure sank die Relation der beiden von normalerweise 1,27 auf 0,85 ab. Hieraus spricht eine Überproduktion von Milchsäure bei gleichbleibender Menge an freiwerdenden Co_2 (Phänomen nach PASTEUR-MEYERHOFF).

b. Physiologische und biochemische Veränderungen
durch Naphthochinon

Aus solchen Beobachtungen ist zu folgern, daß es sich bei Naphthalinvergiftung um eine Störung des Kohlenhydratstoffwechsels mit Verminderung der Energiereserven handelt. Es erhebt sich auch die Frage, ob der Sauerstoffverbrauch durch die Verminderung der Energiereserven gebremst wird oder ob Naphthochinon darüberhinaus direkt in die Oxydationsabläufe eingreift (v. HEYINGEN, POHJOLA, RAIVIO). Auf ihre Beantwortung gerichtete Versuche von YUGE verwendeten eine Konzentration von 10^{-4} . Sie führten ihn zur Erkenntnis, daß für die Glykolyse unter Naphthochinoneinfluß die Chinonreduktase, deren pH-Optimum bei Kälberlinsen um 8 - 8,5 liegt, Bedeutung gewinne. Außerdem zeige die mit β -Naphthochinon kultivierte Kälberlinse Abnahme von K^+ und Zunahme von Na^+ . β -Naphthochinon hemmt die Na^+-K^+-ATP -ase von Epithel - Kapsel, sowie von Rinde - Kern. Infolgedessen quillt die Linse und subkapsulär bilden sich Vakuolen. Diese Vakuolen bei Naphthalinkatarakt wurden auch von MATSUURA festgestellt.

Auch von PIRIE stammt der Hinweis, daß β -Naphthochinon morphologische Veränderungen am Linsenepithel hervorrufen kann. Eine solche Substanz soll Protein-SH-Gruppen oxydieren und so eine Kataraktbildung auslösen (HOCKWIN und Mitarbeiter).

Nach FRIEDBURG und MAYER ließ sich ebenfalls eine Hemmung der GAPDH durch β -Naphthochinon nachweisen, während die Aktivität der Lactatdehydrogenase keine Veränderung erfährt. Das Enzym kann durch reduziertes Glutathion reaktiviert werden. Dies zeigt, daß die Oxydation von SH-Gruppen durch das Chinon zur Aktivitätshemmung der GAPDH führt. Dies hängt von zwei Faktoren ab: Erstens wird mit Zunehmen der Konzentration des Chinons eine verstärkte Aktivitätshemmung erkennbar, zweitens spielt die Dichte des Homogenats eine Rolle. Dies legt KIESOW's Annahme nahe, den Grund im Verbrauch des oxydierten Chinonanteils zu suchen, wie FRIEDBURG und MAYER diskutieren. Weiter erwähnen sie, daß bei den Versuchen im Epithel der mit β -Naphthochinon inkubierten Linse eine Abnahme der Aktivität der GAPDH. Erstaunlicherweise ließ aber auch die Aktivität der LDH nach, ein Befund, der am Homogenat in vitro nicht zu beobachten war.

Stichproben zeigten bei den Untersuchungen von FRIEDBURG und MAYER, daß sich ein weiteres Enzym, die Malatdehydrogenase, ganz ähnlich verhält. Diese Tatsache weist auf eine Schädigung der Linsenepithelien hin. Entweder kommt es dadurch zum Übergang der Enzyme aus der Zelle in das Inkubationsmedium oder aber zur Denaturierung des Enzymproteins durch das in die Zellen gelangende Wasser. Die sehr viel stärkere Hemmung der GAPDH erklärt sich entsprechend den Untersuchungen am Homogenat durch eine zusätzliche Oxydation der SH-Gruppen.

c. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten Veränderungen an Epithel und Linsenfasern. So stellten MATSUURA und WATANABE mit Hilfe einer Replica-Methode elektronenmikroskopische Untersuchungen an Kaninchenlinsen an. Sie fanden, daß die Fortsätze der Linsenfasern bei der normalen Linse um so besser entwickelt waren, desto oberflächlicher die Linsenschicht war. Bei der Naphthalinkatarakt dagegen waren die Fortsätze zerstört. Bei ähnlichen Versuchen von MATSUURA wurden jugendlichen Albinokaninchen 1g/1kg 1 mal oder 2g/2kg 2 mal per os

verabreicht. Biomikroskopisch wurden am Äquator der Linse Speichentrübungen beobachtet, die in der Gruppe von 1g/1kg bei 36 von 45 Fällen $3\frac{1}{2}$ - 36 Stunden, meist 6 Stunden, und in der Gruppe von 2g/2kg 2 mal bei allen Fällen 3 - 12 Stunden nach Verabreichung von Naphthalin auftraten. Elektronenmikroskopisch zeigten sich im Linsenepithel und am Äquator Vakuolenbildung und Quellung der Mitochondrien, die in der 1. Gruppe leicht und reversibel schienen. In der 2. Gruppe waren die Veränderungen hochgradig, es entstanden deutliche Spaltung der Zellmembranen, Zerstörung der Nuclei, Auftreten von abnormen Granula und großen Lysosomen.

Was die morphologische Seite der eigenen Versuche anlangt, so zeigen nach MAYER Linsenepithelien und Iriszellen biomikroskopisch bei einer Konzentration von 10^{-4} keine grobe Änderung von Gestalt und Wachstum, während bei einer Erhöhung der Konzentration auf 10^{-3} alle Kerne eine dunkelbraune Verfärbung erfuhren. (Abb. 1, 2 u 3)

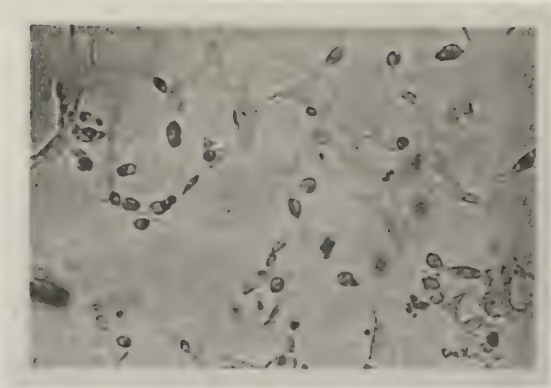


Abb. 1: Ausgesproßte Linsenepithelzellen nach 14 Tagen
unter $10^{-4}M$ Naphthochinon

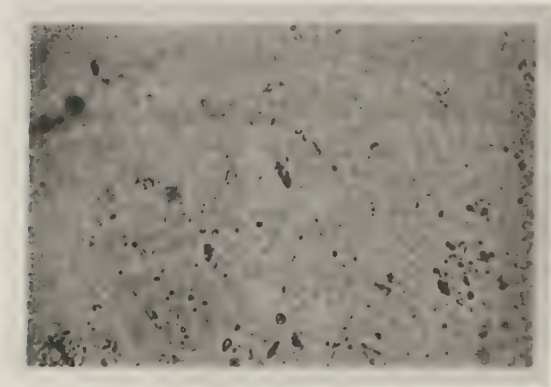


Abb. 2: Dieselben Zellen nach einer Inkubationszeit
von 4 Wochen

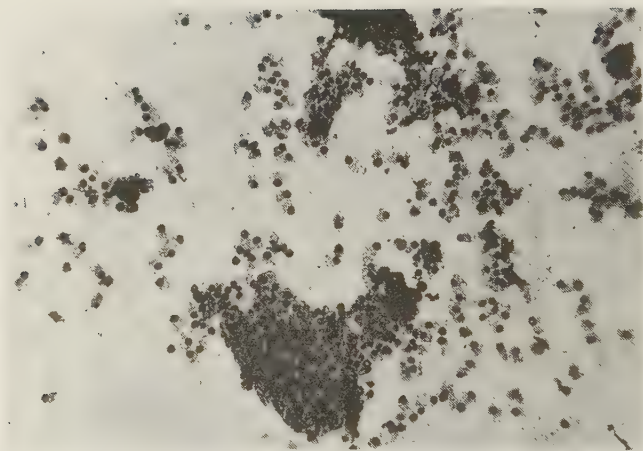


Abb. 3: Linsenepithelien nach einer Inkubationsdauer
von 5 Tagen in 10^{-3} M Naphthochinon

D. Eigene Ergebnisse

a. Werte und Tabellen

Wie am Linsenepithel, so erwies sich bei den eigenen Experimenten auch am Irisgewebe die Menge der verbrauchten Glucose nach Zugabe von β -Naphthochinon deutlich herabgesetzt. Allerdings erschien das Irisgewebe gegen Naphthochinon weniger anfällig als das Linsenepithel. Es hat den Anschein, daß die Hemmwirkung des Naphthochinons nicht allein durch die Inaktivierung der Glycerinaldehyd-Phosphat-Dehydrogenase bedingt ist, sondern darüberhinaus durch die Schädigung eines speziellen Atmungsfermentes. Damit zieht die Wirkung des Naphthochinons die Fermente des Zuckerabbaus bei Linsenepithel und Iris gleich schwer in Mitleidenschaft.

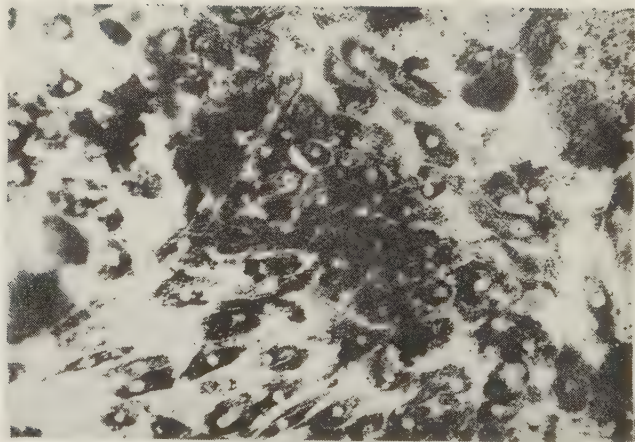


Abb. 4: Ausgesproßte Iriszellen nach einer Inkubationsdauer
von 10 Wochen

	Anzahl der Werte	Mittelwert (mg Glucose) /mg	Standart- abweichung
Epithel in Normal- Glucose	25	11,7	4,3
Epithel in Glucose mit 10^{-4} Naphthochinon	25	3,6	1,7
Iris in Normal- Glucose	25	18,2	6,0
Iris in Glucose mit 10^{-4} Naphthochinon	25	6,7	3,6

Graphische Tabelle

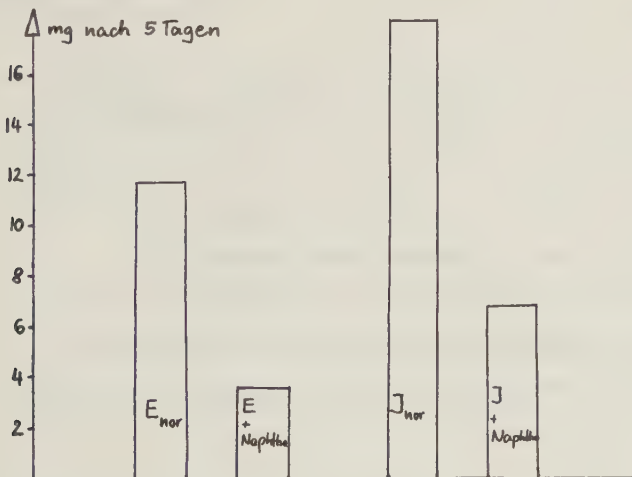


Tabelle und Diagramm über den Glucoseverbrauch in mg/mg
Feuchtgewicht von E = Linsenepithel und J = Irisgewebe
während einer Inkubationszeit von 5 Tagen

b. Statistische Auswertung

Für die statistischen Auswertungen der gemessenen und berechneten Werte wurden Mittelwerte und Standardabweichungen, bzw. 95% Wahrscheinlichkeitsbereiche, bestimmt. Die Anzahl der Einzelwerte in den verschiedenen Gruppen betrug jeweils 25. Um jeweils einander entsprechende Reihen miteinander vergleichen zu können, ließen sich t-Test's für unverbundene Stichproben durchführen. Nach LINDER ergab sich für

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S} \cdot \sqrt{\frac{N_1 \cdot N_2}{N_1 + N_2}}$$

wobei

$$S^2 = \frac{1}{N_1 + N_2 - 2} \left[\sum_{i=1}^{N_1} (X_{1i} - \bar{X}_1)^2 + \sum_{i=1}^{N_2} (X_{2i} - \bar{X}_2)^2 \right]$$

Überschreiten die berechneten t-Werte die für verschiedene Irrtumswahrscheinlichkeiten p-tabellierten, läßt sich folgern, daß die geprüften Reihen im Mittel mit der entsprechenden Irrtumswahrscheinlichkeit p voneinander abweichen.

Der Unterschied wurde als signifikant bezeichnet, wenn p kleiner als 0,05 ausfiel. Der t -Test erscheint anwendbar, da bei der beschriebenen Versuchsanordnung beide Stichproben als voneinander unabhängig gelten können und ihre Standardabweichungen etwa gleich groß sind.

t -Test für die Epithelwerte:

Glucoseverbrauch mit und ohne Naphthochinon

$$s^2 = \frac{1}{25 + 25 - 2} \cdot (459,8 + 72,5) = \frac{1}{48} \cdot 532,3$$

$$s^2 = 11,1$$

$$s = 3,3$$

demnach ist t :

$$t = \frac{8,1}{3,3} \sqrt{\frac{625}{50}} = 2,5 \cdot 3,5$$

$$t = 8,8$$

$$p \leq 0,001$$

Beim Epithel findet sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1% eine signifikante Verminderung des Glucoseverbrauchs unter der Ein-

wirkung von 10^{-4} Naphthochinon. Der Verbrauch sinkt auf $1/3$.

t-Test für Irisgewebe:

Glucoseverbrauch mit und ohne Naphthochinon

$$s^2 = \frac{1}{25 + 25 - 2} (320,4 + 895,4) = \frac{1}{48} \cdot 1215,8$$

$$s^2 = 25,3$$

$$s = 5,0$$

demnach ist t:

$$t = \frac{18,2 - 6,7}{5} \sqrt{\frac{625}{50}} = \frac{11,5}{5} \cdot 3,5$$

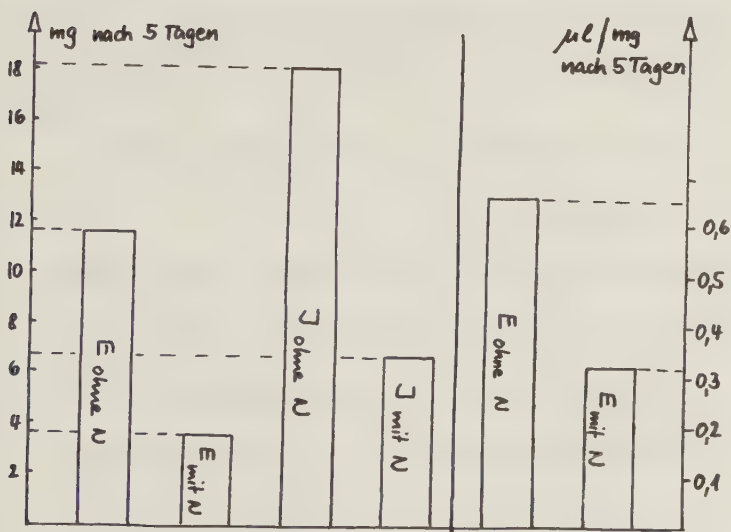
$$t = 8,1$$

$$p \leq 0,001$$

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1% ist der Unterschied beider Reihen ebenfalls signifikant. Das bedeutet, daß Naphthochinon den Glucoseverbrauch des Irisgewebes ebenfalls auf $1/3$ vermindert.

c. Vergleich der gemessenen Werte und Ergebnisse
mit Untersuchungen über die Atmung an Linsen

Vergleicht man die gefundenen Werte mit Ergebnissen parallel laufender Untersuchungen über die Atmung am Linsenepithel, so läßt sich hier eine gewisse Übereinstimmung finden.



Glucoseverbrauch

Sauerstoffverbrauch

Vergleich Glucoseverbrauch - Sauerstoffverbrauch
 mit und ohne 10^{-4} Naphthochinon am 5. Tag nach der
 Inkubation. (Sauerstoffverbrauchswerte nach BUTZKE)

E. Zusammenfassung

Aufgrund der Forschungen vieler Autoren wissen wir, daß Katarakte verschiedener Art an der Linse aus unterschiedlichen Ursachen entstehen können. Durch die Kenntnisse der physiologischen Verhältnisse an der Linse und der Einwirkung verschiedener Substanzen auf die Aktivität von Enzymen der energieliefernden Glykolyse lag es nahe, festzustellen, ob und wie weit das Naphthochinon in diesen Bereichen Einfluß gewinnen kann.

Es bleibt dahingestellt ob auch andere Fermente als diejenigen der Glykolyse betroffen werden (siehe BUTZKE z.B.).

So ergab sich aus den vorliegenden Untersuchungen eine signifikante Verminderung des Glucoseverbrauchs sowohl beim Linsenepithel als auch beim Irisgewebe, wenn dem Inkubationsmedium 10^{-4} Naphthochinon zugesetzt war. Der Glucoseverbrauch beider Gewebe sank in einem 5 Tage dauernden Inkubationsversuch auf je ein Drittel. Daraus ist zu folgern, daß beide Gewebe in derselben Weise und im gleichen Ausmaß eine Schädigung erleiden. Eine derart massive und eindeutig messbare Ver-

minderung der für die Linse lebenswichtigen Glykolyse konnte bisher nach der vorliegenden Literatur an keinem anderen Mittel nachgewiesen und gemessen werden.

Aus Messungen des Kohlendioxydverbrauches von überlebenden Linseneithelien (MAYER) ist bekannt, daß letzteres ein normal atmendes Gewebe ist, welches seinen Energiebedarf hauptsächlich aus Kohlenhydraten deckt. Der Einfluß des β -Naphthochinons auf die Glykolyse der Linsenzellen hat eine schwerwiegende Hemmung der Energiezufuhr zur Linse bewirkt.

Es bleibt dahingestellt, wieweit diese allein eine Trübung der Linsenfaser hervorruft und welche Rolle eine in Parallelversuchen festgestellte Verminderung der Zellatmung dabei spielt.

F. Literaturverzeichnis

- BAKKER, A.: Eine Methode, die Linsen erwachsener Kaninchen ausserhalb des Körpers am Leben zu erhalten
Arch.Ophthal. 135:581-592 (1936)
- BONTING, S.L.: Na.K activated adenosine-tri-phosphatase and active cation transport in the lens.
Invest.Ophthal. 4:723-738 (1965)
- BRINI, A.: L'épithélium antérieur du cristallin humain normal vu par la méthode de l'étalement
Bull.Soc.Ophthal.Fr.: 675-678 (1952)
- BUTZKE, D.: Vom Einfluß des β -Naphthochinon auf den Sauerstoffverbrauch überlebenden Linsenepithels
Inauguraldiss., Erlangen (1975)
- FERRARA, A.: Glicolisi e respirazione del cristallino nella cataratta naftalinica
Ann.Ottal.Clin.Ocul. 66:862-880
(1938)

- FORGACS, J.: Die Bedeutung und die histo-
chemische Lokalisation der
ATP-ase in den oculären Gewe-
ben.
Sitzungsberichte, Schweizerische
Ophthal.Gesellschaft vom 8. -
9. September 1967 in Flims (Schweiz)
- FRIEDBURG, D.: Die Aktivität von Enzymen des
Energie liefernden Stoffwechsels
in klaren und getrübbten Augenlinsen
Habilitationsschrift, Düsseldorf
(1968)
- FRIEDBURG, D. und MAYER, U.: Die Wirkung von β -
Naphthochinon auf glykolytische
Enzyme des Linsenepithels
Albrecht von GRAEFE's Archiv
klin. exp. Ophthal. 183:152-157
(1971)
- FRIEDBURG, D. und MOOG, P.: Die Aktivität von Enzymen
der Glykolyse und des Citratcyclus
in verschiedenen Abschnitten
menschlicher Kataraktlinsen
Bericht über die 68. Zusammenkunft
der Deutschen Ophthalmologischen
Gesellschaft in Heidelberg 1967,
Verlag von J.F. Bergmann in München,
S. 126-131

- HANSSON, H.A.: Scanning Electron Microscopy
of the lens of the adult Rat.
Z. Zellforsch. 107:187-198 (1970)
- HARRIS, J.E., BECKER, B.: Cation transport of the lens.
Invest. Ophthalm. 4:709 (1965)
- HEYNINGEN, R.v.: The metabolism of glucose by the
rabbit lens in presence and
absence of oxygen.
Biochem. J. 96:419 (1965)
- HOCKWIN, O. und Mitarbeiter: WEIGELIN, E., KORTHAUS, A.,
OKAMOTO, T., MURATA, T.: Die Wirkung von l-Hydroxy-
pirido (3,2)-5-phenoxazon-3-
carboxylsäure (Catalin) auf
experimentell erzeugte Linsen-
trübungen beim Kaninchen.
Ber. dtsh. ophthalm. Ges.
69:452-457 (1968)
- KINOSHITA, J.H.: Pathways of glucose metabolism
in the lens. (Howe Labor. of Ophth.,
Harvard Med. School, Massachusetts
Eye and Ear Infirm., Boston, Mass.)
Invest. Ophthalm. 4:619-628 (1965)

- KIRBY, D.B.: The Cultivation of Lens
Epithelium in vitro.
Arch. Ophthal. 56:450 (1927)
- KIESOW, L.: Über Gärung und Chinon im Zell-
stoffwechsel.
Z. Naturforsch. 15b:174 (1960)
- LEZENIUS, A.: Ein Fall von Naphthalin-Katarakt
am Menschen
Klin. Mbl. Augenheilk. 50:129 ff
(1902) und Zbl. Augenheilk. XXVI:152
(1902)
- LINDER, A.: Statistische Methoden, S. 93 (1964)
Birkhäuser Verlag, Basel u. Stuttgart
- MATSUURA, H.: Comparative studies on experimental
naphthaline cataracts and human
cataracts with electron microscope.
(Dept. Ophth., School Med.,
Tottori Univ., Yonago) Acta Soc.
ophthal. jap. 73:146-152 mit engl.
Zus.fass. (1969) (japanisch).
- MATSUURA, H.: Electron microscopic studies of
lens and ciliary body of rabbits
with experimental naphthaline
cataract.
(Dept. Ophthal., School Med., Tottori
Univ., Yonago) Acta Soc. ophthal. jap.
72: 1708-1732 mit engl. Zus.fass. (1968)
(japanisch)

- MATSUURA, H. und WATANABE, T.: Electron microscopic studies of the processus of lens fibers with replica method.II. Comparative studies upon the processus of the lens fibers of experimental naphthaline cataract.
(Dept. Ophth., School Med., Tottori Univ. , Yonago) Acta Soc. ophthal. jap. 73:253-259 mit engl. Zus.fass. (1969) (japanisch)
- MAYER, U.: Untersuchungen an Gewebekulturen aus Kälberaugen.
Habilitationsschrift, Erlangen (1974)
- MAYER, U.: Untersuchungen zur Atmung an überlebendem Linsenepithel
Sonderdruck aus: Bericht über die 70. Zusammenkunft der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft in Heidelberg 1969
Verlag J.F. Bergmann, München, 1970
- MERRIAM, F.C. und KINSEY, V.E.: Studies on the crystalline Lens.I. Technic for in vitro Culture of crystalline Lenses and Observations on Metabolism of the Lens
Arch.Ophthalm. 43:979-988 (1950)

- NORDMANN, J. und ZIMMER, J.-G.: La glycolyse dans
la cataracte naphthalinique
Bull. Soc. Franc. Ophthal.
62:958-983 (1949)
- OBERMANN, A.E.: Scanning Electron Microscopy of
the Lens and Zonula Fibers
Amer.J.Ophthalmol. 72:604-607 (1971)
- PAPACONSTANTINOU, J.: Molecular Aspects of Lens Cell
Differentiation
Science 156:338-346 (1967)
- PASTEUR-MEYERHOFF: zitiert nach
"Untersuchungen an Gewebekulturen
aus Kälberaugen" von U. MAYER
Habilitationsschrift, Erlangen
- PAU, H.: zitiert nach
"Untersuchungen an Gewebekulturen
aus Kälberaugen" von U. MAYER
Habilitationsschrift, Erlangen
- PIRIE, A.: Pathology in the Eye of the
Naphthalene-fed Rabbit
Exp. Eye Res. 7:354-357 (1968)
- POHJOLA, S. und RAIVIO, K.: Cataracta zonularis bei
idopathischer infantiler Hypo-
glykämie
Klin. Mbl. Augenheilk. 159:773-780
(1971)

- QUARRÉ, LASEUR, ROLFINCK, BRISSEAU: zitiert nach
HIRSCHBERG, J.: Geschichte der
Augenheilkunde. In: GRAEFE-
SAEMISCH: Handbuch der ges. Augen-
heilk. II. Aufl. Bd. XII - XV. Ver-
lag Wilh. Engelmann Leipzig 1911
- ROHEN, J.W.: In: Handbuch der mikroskopischen
Anatomie des Menschen: Das Auge
und seine Hilfsorgane.
III: 4, 239-285, 395-412 (1964)
Springer-Verlag
- SCHRECK, E.: zitiert nach "Untersuchungen an
Gewebeulturen aus Kälberaugen"
von U. MAYER, Habilitationsschrift,
Erlangen 1971
- THIELE, H. und WOLLMER, A.: Zur Struktur der Augen-
linse.
Klin. Mbl. Augenheilk. 146:900 (1965)
- TROKEL, S.: The physical basis for transparency
of the crystalline lens.
Invest. Ophthalm. 1:493 (1962)
- VINAS, J.: Cataratas producidas per medi-
camentos
Arch.Soc.Oftal. Hisp.-Amer.
25:256-267 (1965)

- VOADEN, M.J.: Effect of Temperature on Cell Division in the cultured Rabbit Lens
Exp. Eye Res. 11:7-14 (1971)
- WACHTEL, C. und KINSEY, V.E.: Studies on the crystallin Lens. VIII A synthetic Medium for Lens Culture and the Effects of various Constituents on Cell Division in the Epithelium
Amer.J.Ophthal. 46:288-293 (1958)
- WATANABE, T.: Electron Microscope Studies of the Lens and the ciliary Body of Rabbits with experimental Dinitrophenol Cataract.
Acta Soc. Ophthal. Jap. 73:393-411 (1969)
- WEEKERS, R.: Recherches expérimentales et cliniques concernant la pathogénie des cataractes. Le métabolisme hydrocarboné du cristallin. Liéges, Thèse d'Agrégation en Sciences Ophthalmologiques (1941)
- WEISSENFELS, N.: zitiert nach " Untersuchungen an Gewebekulturen aus Kälberaugen" Habilitationsschrift, Erlangen von U. MAYER (1974)

YUGE, T.: The effect of β -naphthoquinone
 upon Na and K levels and Na-K-ATP-
 ase of calf lens.
 (Dept. Ophthal., Kyoto City Hosp.,
 Kyoto Med. ctr., Kyoto)
 Acta Soc. ophthal. jap. 70: 2176-
 2178 mit engl. Zus.fass. (1966)
 (japanisch)

Herrn Professor Dr. med. E. SCHRECK
danke ich für die Überlassung eines
Themas und Arbeitsplatzes, wodurch
mir die Erstellung der vorliegenden
Arbeit ermöglicht wurde.

Frau Privatdozentin Dr. med. U. MAYER
danke ich für die Auswahl und Formu-
lierung des Themas und für die immer-
währende freundliche Unterstützung,
die sie mir in jeder Situation zuteil
werden ließ, ebenso wie Frl. BENDRICH
für ihre tatkräftige Unterstützung im
Labor.

Lebenslauf

Ich, Erich J a k o b, wurde am 21.4.1944 als zweites Kind der Eheleute Dr. Alfons Jakob und Marcelle Jakob, geb. Suetens, in Memmingen geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Nürnberg trat ich in das Humanistische Gymnasium in Fürth/Bay. ein, von wo aus ich nach zwei Jahren zum Realgymnasium in Nürnberg überwechselte. Ab 1960 besuchte ich das Neusprachliche Gymnasium in Königshofen im Grabfeld, wo ich 1966 das Abitur bestand.

Ab Herbst desselben Jahres studierte ich an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen das Fach Zahnmedizin, das ich im Jahre 1972 mit dem Staatsexamen abschloß. Nach Ableistung des Wehrdienstes als Stabsarzt und Absolvierung meiner Assistentenzeit gründete ich am 1. März 1975 mit einem Kollegen in Bogen/Ndb. eine Gemeinschaftspraxis.

Erich Jakob

Copy - Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131 - 26197